

LA DROSÓFILA DE ALAS MANCHADAS

Drosophila suzukii: CRÍA EN LABORATORIO Y ENSAYOS PRELIMINARES CON PARASITOIDES

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Ctra. de Montcada a Náquera, km. 4.5 46113-Montcada, Valencia. Email: beitia_fra@gva.es

² Laboratorio de Entomología y Control de Plagas. Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universidad de Valencia. 46980 Paterna, Valencia.

³ Área de Zoología. Facultad de Biología. Universidad de Salamanca. 37071 Salamanca.

Resumen

El díptero drosofilido *Drosophila suzukii* se detectó en España en el año 2008, habiendo experimentado una rápida expansión por toda la Península Ibérica y causado alarma en el mundo agrícola por ser capaz de producir daños en diferentes cultivos.

Por el momento, en la Comunidad Valenciana se ha evidenciado su establecimiento generalizado en las provincias de Castellón y Valencia, pero aún no se ha constatado que haya generado daños destacables en ningún cultivo.

El Departamento de Entomología del IVIA se ha planteado desarrollar el estudio sobre su potencialidad como plaga, para lo cual se ha puesto en marcha su cría controlada en laboratorio, a fin de efectuar los ensayos pertinentes.

En este artículo se describe el protocolo que se ha desarrollado para el mantenimiento de tal cría de laboratorio, así como se presentan los resultados de los primeros ensayos con parasitoides, como potenciales agentes de control biológico de esta plaga.

Introducción

La mosca *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) fue detectada en España por vez primera en la provincia de Tarragona, en el año 2008, y ya en 2012 se encontró esta especie en numerosas provincias del estado español (Sarto y Sorribas, 2011; RAIF, 2014).

Para la Comunidad Valenciana, la primera cita oficial fue realizada por el IVIA, como se indicó en un artículo anterior aparecido en esta misma revista (Pérez-Sayas *et al.*, 2013). Aunque aún no se han citado daños reseñables en algún cultivo, se sabe que cereza, fresa, frambuesa y uva son frutos susceptibles a su ataque.

Por su potencial peligrosidad, en el Departamento de Entomología del IVIA se ha iniciado un estudio de este

díptero, pues puede llegar a convertirse en plaga de algunos cultivos. Y para ello, se ha considerado imprescindible el establecimiento y mantenimiento de una cría en laboratorio de esta especie, que permita realizar los ensayos necesarios para acometer el objetivo previsto: estudiar la capacidad de desarrollo del insecto, así como valorar el potencial de algunas especies de parasitoides, enemigos naturales de moscas de las frutas y en cría en las instalaciones del IVIA, como agentes de control biológico de esta nueva plaga.

Si bien se tiene referencia de diversos trabajos realizados para conocer aspectos precisos de la biología de esta especie, como el ensayo de Kanzawa (1939) o el llevado a cabo por Sasaki y Sato (1995) e incluso alguno más reciente, como el de Walsh *et al.* (2011), todos ellos han aportado, en su conjunto, datos contradictorios que no permiten fijar con seguridad los parámetros biológicos

básicos del ciclo de vida del díptero y sus condiciones de desarrollo y supervivencia.

Adicionalmente, las referencias a enemigos naturales que pueden actuar como agentes de control biológico de esta mosca también son escasas y, especialmente, muy recientes y poco clarificadoras sobre el potencial uso de las especies de parasitoides (Chabert *et al.*, 2011; Chabert *et al.*, 2012; Cini *et al.*, 2012; Kasuya *et al.*, 2013). En España, destaca el reciente trabajo de Arnó *et al.* (2012), quienes han identificado algunas especies de depredadores como potenciales agentes de control de la plaga; también Cuch-Arguimbau *et al.* (2013) han señalado la presencia en Cataluña de dos especies de himenópteros parasitoides, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Chalcidoidea: Pteromalidae) y *Leptopilina boulardi* (Cynipoidea: Figitidae), actuando sobre *D. suzukii* en una plantación ecológica de cerezos.



Figura 1. Caja de adultos de *D. suzukii*, con las placas Petri con dieta artificial para la puesta de las hembras.



Figura 2. Adultos de *D. suzukii* en la placa Petri con dieta artificial. Se aprecia una pareja en plena cópula.



Figura 3. Huevo de *D. suzukii* insertado en la dieta artificial. Se aprecian los dos filamentos que sirven para la respiración del huevo.



Figura 4. Larva de *D. suzukii* alimentándose en la dieta artificial. Se aprecian las mandíbulas, de color negro.



Figura 5. Pupa de *D. suzukii* en la dieta artificial.



Figura 6. Aspecto de las 2 cajas de adultos de *D. suzukii*, en el interior de la cámara climática.



Figura 7. Caja con placas Petri para emergencia de adultos.



Figura 8. Detalle de una placa Petri con dieta artificial, en la que ya se ha producido la pupación de los individuos.



Figura 9. Detalle del interior de una caja de adultos de *D. suzukii* con piezas de uva para la puesta de huevos del díptero.



Figura 10. Caja de ensayo de parasitoidismo, donde se aprecian: la placa con pupas en dieta artificial, la placa con azúcar y el bote con agua. Se observa la presencia de adultos del parasitoide, *S. cameroni*.

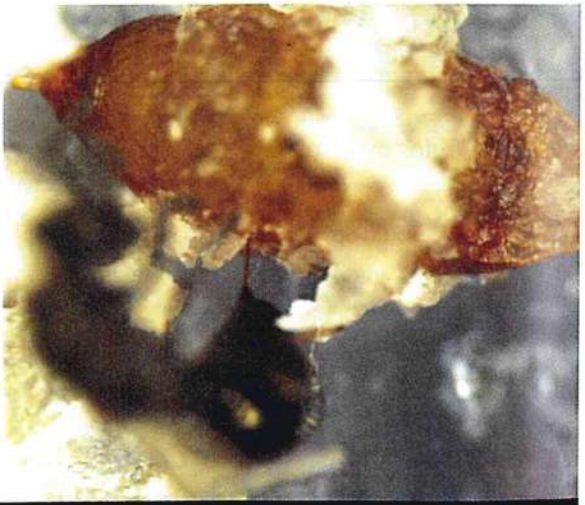


Figura 11. Detalle de una hembra de *S. cameroni*, introduciendo su ovipositor en la pupa de *D. suzukii*, para efectuar la puesta de un huevo.

En este trabajo se presenta el sistema de cría de mantenimiento de esta especie desarrollado en el IVIA, así como referencias preliminares a la actividad de parasitoidismo sobre la misma, de algunas especies de parasitoides de moscas de las frutas que se mantienen en crías controladas en el Departamento de Entomología del IVIA y son susceptibles de actuar sobre este díptero.

Desarrollo del protocolo de cría de *D. suzukii*

Como se ha indicado, la finalidad de nuestro trabajo ha sido poner a punto un protocolo de cría del drosófilo, que facilite su mantenimiento en laboratorio de forma sencilla y permita disponer de las diferentes fases de desarrollo del insecto, con vista a realizar ensayos sobre la biología del mismo, al igual que ensayos de actividad parasitaria con diferentes especies de himenópteros parasitoides disponibles.

En un principio, se contactó con el Equipo de Entomología del IRTA (Cabrils, Barcelona), que suministró los individuos de *D. suzukii* para el inicio de nuestra cría. Al no encontrar referencias bibliográficas respecto a un sistema específico de la cría en laboratorio de *D. suzukii*, se decidió iniciar nuestro trabajo con el protocolo existente para la cría de otro drosófilo bien conocido, *Drosophila melanogaster*, que lleva a cabo el equipo del Departamento de Genética de la Facultad de Biología de la Universidad de Valencia.

Según este protocolo, en un matraz de 150 ml se dispone una capa de unos centímetros de grosor de la "dieta alimenticia artificial" para la mosca y un papel de filtro en acordeón sobre ella. En este recipiente es donde se introducirán posteriormente los adultos y se dejará que ahí mismo hagan la puesta, se desarrollen las larvas, evolucionen a pupas y, finalmente, emerjan los adultos de la nueva generación. La dieta mencio-

nada sirve como lugar de oviposición de las hembras y como alimento de larvas y adultos de las moscas.

La composición de la dieta artificial suministrada por el protocolo de cría de *D. melanogaster* es la siguiente:

- 1l de agua
- 10'5 g de agar
- 60 g de levadura fresca
- 10 g de harina de soja
- 60 g de harina de maíz
- 50 g de azúcar
- 5 ml de ác. propiónico
- 10 ml de etanol absoluto
- 3 g de nipagín (metil parabén)

El sistema empleado para la cría de *D. melanogaster*, aunque útil para el mantenimiento de una cría de este otro díptero, no se ajusta a las necesidades que se pensaba debería tener una cría de *D. suzukii* y que permitiera desarrollar las actividades futuras deseadas: en un mismo recipiente se encuentran diferentes generaciones, no se puede extraer puestas de huevos o larvas, al igual que adultos, de forma sencilla, ni tampoco es cómodo a la hora de manipular el interior del recipiente.

Por ello, se ha ideado un protocolo de cría que permita una fácil extracción de adultos para realizar ensayos, la recuperación de puestas de huevos de forma rápida, sencilla y cómoda, y que a la vez ofrezca un mantenimiento básico simple. El sistema definitivo se ajusta a las necesidades de una cría controlada y masiva, y se basa en utilizar como unidad de cría una caja de plástico duro transparente, en la que en una de sus caras se ha reemplazado el plástico por una tela de muselina que facilita la ventilación interior, y en otra cara se ha ajustado una manga (a base también de tela muselina) que permite el cerrado de la caja y el acceso a la misma.

En el interior de las cajas se suministra agua a los adultos del díptero por medio de botellas de plástico, que tienen una tira de bayeta constante-

mente humedecida. También se les administra azúcar en una placa Petri y miel impregnada en una tira de papel de filtro (Fig. 1, pag. 66).

Para que las hembras puedan efectuar la puesta, en el interior de las cajas se colocan bases de placas Petri (8,5 cm de diámetro) donde se ha puesto el medio artificial de desarrollo. Aquí se produce la cópula entre adultos, la puesta de las hembras y también se desarrollan las larvas, se efectúa la pupación, e incluso sirve de alimentación extra para estos adultos (Figs. 2, 3, 4 y 5, pag. 66). Estas placas de puesta y desarrollo se mantienen en la caja de adultos durante varios días, para obtener una puesta abundante. Pueden extraerse fácilmente, sin afectar a la cría, lo que facilita usar este sistema para la obtención de una puesta concreta que vaya a usarse en la realización de ensayos.

La cría se está manteniendo en cámara climática, con condiciones de $23 \pm 0,5$ °C, humedad relativa elevada (60% - 70%) y fotoperiodo de 16:8 (Luz:Oscuridad) (Fig 6, pag. 66).

Situación actual de la cría de *D. suzukii*

Actualmente se lleva ya 9 meses de cría ininterrumpida del drosófilo. Debe señalarse que se ha efectuado un cambio muy importante en la composición de la dieta artificial respecto al protocolo original de la misma, tras un periodo de tiempo en el que la cría funcionaba, pero existía una elevada mortalidad de inmaduros en contradicción con una situación de desarrollo del díptero en condiciones óptimas. Tras diversas pruebas, se comprobó que la causa de esta situación era la presencia del ácido propiónico en la dieta. Tras eliminarlo de la misma, se obtuvo un aumento significativo de la supervivencia de inmaduros, sin que se viera afectada la calidad de la dieta. Por ello, actualmente se mantiene la cría con esa dieta artificial de desarrollo indicada anteriormente, pero sin usar ácido propiónico en su composición.

Por otra parte, se mantiene un total de 3 cajas de adultos por semana simultáneamente: dos de ellas con adultos de dos generaciones sucesivas y en plena actividad de puesta de las hembras, en las que se coloca tres bases de placa Petri con dieta artificial por caja y semana; la otra caja contiene las placas Petri con las pupas y en ellas se va produciendo paulatinamente la emergencia de adultos, constituyendo la nueva generación del díptero (Figs 7 y 8, pag. 66). De esta forma, cada generación de *D. suzukii* es utilizada durante dos semanas para la obtención de puesta de huevos.

Se ha probado a colocar ocasionalmente, junto con el medio artificial, piezas de fruta (uva, ciruelo, manzana) que son también utilizadas por las moscas para alimentación y en las que las hembras hacen puesta (Fig 9, pag. 66). Aunque no parece que sea necesario recurrir a ello para el mantenimiento por largo tiempo de la cría controlada, sin embargo, se evidencia como un sistema óptimo para obtener una puesta natural directamente en fruta, que pueda facilitar el desarrollo de diferentes ensayos de laboratorio, como podría ser el de parasitoidismo por parte de algunas especies de enemigos naturales de la plaga.

Ensayos preliminares con parasitoides

En la actualidad, una de las líneas de investigación que se desarrolla en el Departamento de Entomología del IVIA está dedicada al estudio de parasitoides de moscas de las frutas, como agentes de control biológico de *Ceratitis capitata*. Debido a ello, se mantiene la cría controlada de varias especies de himenópteros; entre éstas se tiene dos especies de pteromálicos, que presentan la peculiaridad de ser parasitoides generalistas de pupas de numerosas especies de dípteros, entre ellos moscas de las frutas. Se trata de *Spalangia cameroni* Perkins y *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani).

La segunda de estas especies, como

se ha indicado anteriormente, ya ha sido encontrada parasitando a *D. suzukii* en España (Cuch-Arguimbau *et al.*, 2013), así como en otros países con presencia de la plaga (Chabert *et al.*, 2012).

Se consideró interesante comprobar la capacidad de ambas especies por parasitar pupas de *D. suzukii* en condiciones de laboratorio, como paso previo a estudios más precisos. Para ello, se ofrecían pupas, obtenidas de la cría controlada del díptero, a diversas parejas de ambas especies de parasitoides, en cajas de ensayo independientes. En estas cajas de plástico, con cierre hermético para evitar fugas, se colocaba una base de placa Petri pequeña (5,5 cm de diámetro) que portaba las pupas en el medio de desarrollo, junto con otra base de placa Petri con azúcar, que servía de aporte alimenticio para los adultos de los parasitoides y un bote con agua y una tira de bayeta como bebida (Fig 10, pag. 66). Los adultos de los parasitoides permanecían durante 5 días en las cajas, tras lo cual eran eliminados y se permitía el desarrollo de las pupas del díptero y, en su caso, de los inmaduros de los parasitoides.

En total se ha comprobado la generación de parasitoidismo utilizando 6 cajas para cada especie, cada una con 3 parejas de los parasitoides. Siendo una prueba preliminar, no se pretendía cuantificar el potencial parasitoidismo generado, por lo cual no se partía de un número fijo y definido de pupas de la mosca.

En todos los casos se ha obtenido emergencia de adultos de los parasitoides, lo que evidencia la capacidad de las dos especies por actuar sobre pupas de este díptero. En el caso de *P. vindemmiae* es una confirmación de su capacidad en actuar sobre pupas de *D. suzukii*, pero en el caso de *S. cameroni* es la primera cita existente del parasitoidismo de esta especie de himenóptero sobre pupas del drosófilo, aunque sea en condiciones de laboratorio (Fig 11, pag. 66). Todo ello nos plantea la necesidad de

iniciar un análisis pormenorizado de la actividad parasitaria de ambas especies, para poder concluir su importancia como agentes de control biológico de esta plaga emergente.

Agradecimientos

A los compañeros del Equipo de Entomología en el IRTA de Cabrils (Barcelona), por el envío de ejemplares de *D. suzukii* y toda la información que nos han servido oportunamente.

Al Equipo del Departamento de Genética de la Facultad de Biología de la Universidad de Valencia, por toda la información y ayuda aportada para el inicio de la cría de *D. suzukii*.

Bibliografía

- Arnó J., Riudavets J., Gabarra R. 2012. Survey of host plants and natural enemies of *Drosophila suzukii* in an area of strawberry production in Catalonia (northeast Spain). IOBC-WPRS Bulletin 80:29-34.
- Chabert S., Allemand R., Poyet M., Ris N., Gibert P. 2011. *Drosophila suzukii*, vers une lutte biologique contre ce ravageur des fruits rouges. Phytoma 660:34-38.
- Chabert S., Allemand R., Poyet M., Eslin P., Gibert P. 2012. Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. Biological Control 63:40-47.
- Cini A., Ioratti C., Anfora G. 2012. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. Bulletin of Insectology 65(1): 149-160.
- Cuch-Arguimbau N., Escudero-Colomar L.A., Forchage M., Pujade-Villar J. 2013. Identificadas dos especies de Hymenoptera como probables parasitoides de *Drosophila suzukii* en una plantación ecológica de cerezos en Begues. Phytoma-España, 247: 42-48.
- García-Martínez F.O. 2013. La drosófila de alas manchadas, *Drosophila suzukii*: estudios en la Comunidad Valenciana. Trabajo Final de Máster, Máster en Biodiversidad: Conservación y Evolución. Universitat de València, 42pp.
- Kanzawa T. 1939. Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu, Yamanashi Agric. Exp. Sta. 49 pp. (Abstract in Review of Applied Entomology 29: 622).
- Kasuya N., Mitsui H., Ideo S., Watada M., Kimura M. T. 2013. Ecological, morphological and molecular studies on *Gnaspis individualis* (Hymenoptera: Figitidae) attacking *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). Appl Entomol Zool 48:87-92.
- Pérez-Sayas C., Planes L., Urbaneja A., Beitia F. 2013. Primera detección de *Drosophila suzukii* (Matsumura), la drosófila de las alas manchadas, en la Comunidad Valenciana. Agrícola Vergel, 368:293-297.
- RAIF. 2014. *Drosophila suzukii*. Visita página: 3 de marzo de 2014. (www.juntadeandalucia.es/raif/plagas/drosophilasuzukii/index.html).
- Sarto V., Sorribas R. 2011. *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931), nueva amenaza para las plantaciones agrícolas. Phytoma-España, 234:54-59.
- Sasaki M., Sato R. 1995. Bionomics of the cherry drosophila, *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae) in Futeushima prefecture (Japan). Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan 46: 164-172.
- Walsh D.B., Bolda M.P., Goodhue R.E., Dreves A.J., Lee J., Bruck D.J., Walton V.M., O'Neal S.D., Zalom F.G. 2011. *Drosophila suzukii* (Diptera:Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. Journal of Integrated Pest Management 2(1): 1-7